

Pemberian Ekstrak Daun Singkong Pada Burung Puyuh yang Mengalami Cekaman Panas

Administration of Cassava Leaf Extract to Heat Stressed Quail

Koekoeh Santoso¹, Joanita Maria¹, Ni Luh Putu Ika Mayasari², La Jumadin¹

¹Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis,
Kampus IPB Dramaga, Institut Pertanian Bogor, Bogor

²Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesmavet Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis,
Kampus IPB Dramaga, Institut Pertanian Bogor, Bogor

*Email : koekoehsa@apps.ipb.ac.id

Naskah diterima: 15 Maret 2022, direvisi: 31 Mei 2023, disetujui: 18 Februari 2024

Abstract

Tropical climate, equinoxes, and global warming phenomena in Indonesia can cause heat stress problems in poultry, including quail. The impact is a decrease in the performance and production of quail, therefore efforts need to be made to overcome the problem of heat stress. The purpose of this study was to prove the potential of cassava leaf extract to overcome heat stress in adult quail ananas. The study was conducted using 16 quails which were divided into 4 groups, consisting of 4 quails as control which were treated at 35 C, and each of the other 4 quails were treated at 35 C and given cassava leaf extract at the same dose. different by 5.292 mg/168g, 10,584 mg/168 g, and 21,168 mg/168 g body weight. The results showed that cassava leaf extract containing flavonoids and chlorophyll was proven to reduce malondialdehyde (MDA) levels in quail under heat stress. Egg quality also increased based on the parameters of albumin height, egg yolk height, and shell thickness, but the levels were not significant. The parameters of total leukocytes, heterophile per lymphocyte ratio, and leukocyte differential did not show significant differences. Cassava leaf extract has also not been shown to be able to reduce total protein in quail under heat stress. The results of inactivated ND vaccination which were carried out once showed low antibody titers in all groups

Keywords: Quail; flavonoid; chlorophyll; Manihot esculenta; heat stress

Abstrak

Fenomena iklim tropis, ekuinoks, dan pemanasan global di Indonesia dapat menyebabkan masalah cekaman panas pada peternakan unggas termasuk puyuh. Dampaknya adalah penurunan performa dan produksi puyuh, oleh karena itu perlu dilakukan upaya untuk mengatasi masalah heat stress. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan potensi ekstrak daun singkong untuk mengatasi cekaman panas pada puyuh dewasa anas. Penelitian dilakukan dengan menggunakan 16 ekor puyuh yang dibagi menjadi 4 kelompok, terdiri dari 4 ekor puyuh sebagai kontrol yang diberi perlakuan suhu 35 °C, dan masing-masing 4 ekor puyuh lainnya diberi perlakuan suhu 35 °C dan diberi ekstrak daun singkong dengan dosis yang berbeda-beda sebesar 5,292 mg/168g, 10,584 mg/168 g, dan 21,168 mg/168 g berat badan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun singkong yang mengandung flavonoid dan klorofil terbukti dapat menurunkan kadar malondialdehida (MDA) pada puyuh yang mengalami cekaman panas. Kualitas telur juga meningkat berdasarkan parameter tinggi albumin, tinggi kuning telur, dan tebal cangkang, namun kadarnya tidak signifikan. Parameter total leukosit, rasio heterofil per limfosit, dan diferensial leukosit tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Ekstrak daun singkong juga belum terbukti mampu menurunkan total protein pada puyuh yang mengalami cekaman panas. Hasil vaksinasi ND inaktif yang dilakukan satu kali menunjukkan titer antibodi yang rendah pada semua kelompok.

Kata kunci: Puyuh; flavonoid; klorofil; Manihot esculenta; heat stress

Pendahuluan

Indonesia memiliki iklim tropika basah yang umumnya bersuhu tinggi dan lembab (Handoko, 2010). Iklim tropis ini menyebabkan perbedaan suhu yang signifikan antara siang dan malam. Selain itu dikenal pula peristiwa equinox yaitu fenomena dimana matahari tepat di atas khatulistiwa, secara periodik berlangsung dua kali dalam setahun yaitu pada tanggal 21 Maret dan 23 September, dan menyebabkan peningkatan suhu di katulistiwa, termasuk Indonesia. Selain itu pemanasan global sedang terjadi. Berdasarkan pemodelan yang dilakukan *Intergovernmental Panel of Climate Change/IPCC*, pada tahun 2100 temperatur bumi akan meningkat 1,8 – 4°C dibandingkan rata-rata temperatur pada periode 1890-1999 sedangkan temperatur rata-rata di Indonesia dapat mencapai 28,7 – 37,7°C, jauh lebih tinggi dibandingkan suhu nyaman unggas, yakni 20 - 25°C (IPCC 2007; Syafwan, 2012). Peningkatan temperatur lingkungan akan menjadi faktor pemicu timbulnya stres. Stres didefinisikan sebagai peristiwa atau kondisi eksternal yang menghasilkan “ketegangan” dalam sistem biologis. Ketika stres lingkungan, ketegangan diukur sebagai perubahan suhu tubuh, tingkat metabolisme, produktivitas, konservasi panas, dan/atau mekanisme disipasi. Stres termal dipicu ketika kondisi lingkungan melebihi suhu kritis atas atau bawah hewan domestik yang membutuhkan peningkatan metabolisme basal untuk mengatasi stres. Hewan meningkatkan respons terhadap stres yang melibatkan perubahan perilaku, metabolisme, dan fisiologis pada berbagai tingkat organisasi vertebrata dari subseluler hingga hewan utuh (Collier dan Gebremedhin, 2015).

Ternak unggas akan lebih rentan terhadap pemanasan global dibandingkan ternak mamalia akibat termoregulasinya tidak sebaik mamalia. Pengeluaran panas pada unggas terbatas karena tidak aktifnya kelenjar keringat dan tubuhnya tertutup bulu. Peternakan unggas di Indonesia menghadapi tantangan besar terkait dengan fenomena iklim yang terjadi di wilayah tropis ini. Hal ini dikarenakan unggas tergolong hewan homeotermik yang tidak memiliki kelenjar keringat dan hampir semua bagian tubuhnya tertutup bulu, sehingga unggas lebih

sulit melakukan termoregulasi untuk membuang panas dari tubuhnya ke lingkungan. Kesulitan membuang panas inilah yang menjadikan unggas mudah mengalami cekaman panas. Kondisi stres akibat cekaman panas dapat mempengaruhi sintesis, stabilitas dan aktivitas enzim pada puyuh (Tamzil *et al.*, 2014). Hal ini dapat mengakibatkan produksi telur dan kualitas telur menurun serta peningkatan angka morbiditas dan mortalitas (St-Pierre *et al.*, 2003), menekan kekebalan tubuh, serta menurunkan efisiensi ransum dan pertumbuhan.

Iklim Indonesia yang tropis juga membuat berbagai macam tumbuhan dapat tumbuh alami secara mudah di Indonesia. Salah satu tumbuhan yang banyak dimanfaatkan baik umbinya maupun daunnya adalah tanaman singkong (*Manihot esculenta*). Penelitian yang dilakukan oleh Cesar *et al.*, (2011) menyatakan bahwa daun singkong banyak mengandung bentuk senyawa murni dari jenis flavonoid seperti rutin, kersetin dan lainnya. Bentuk senyawa murni dari flavonoid dapat berefek sebagai antioksidan dan anti bakteri. Daun singkong yang mengandung flavonoid sebagai antioksidan ini diharapkan mampu mengatasi stres oksidatif pada puyuh yang mengalami cekaman panas akibat paparan suhu tinggi.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak daun singkong pada burung puyuh dewasa yang diberi cekaman panas berkepanjangan terhadap jumlah leukosit, rasio heterofil per limfosit, diferensial leukosit, titer antibodi, malondialdehida (MDA), total protein, serta kualitas telur.

Materi dan Metode

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dosis ekstrak daun singkong. Penelitian ini menggunakan 24 puyuh dengan setiap kandang berukuran panjang 100 cm dan lebar 70 cm dan berisi satu kelompok dengan 6 puyuh sebagai ulangan. Pangaturan suhu ruang kandang menggunakan lampu pijar yang diatur oleh termostat digital sehingga udara kandang dapat diatur suhunya sebesar 35 °C. Setiap burung puyuh dicekok dengan ekstrak klorofil sesuai dosis dan dilarutkan dalam 0.1 ml air sebanyak satu kali dalam sehari, yaitu pada sore hari.

Vaksinasi dilakukan menggunakan vaksin New Castle Disease (ND) inaktif komersial setelah burung puyuh diberi perlakuan panas dan pemberian ekstrak daun singkong selama satu minggu. Darah burung puyuh diambil 10 hari pasca vaksinasi, kemudian serumnya disimpan pada suhu 4 °C untuk pengujian parameter selanjutnya.

Pembuatan dan Pemberian Dosis Ekstrak Daun Singkong

Ekstrak daun singkong yang digunakan pada penelitian ini adalah hasil ekstraksi menggunakan etanol 95 % seperti yang dilakukan Jumadin *et al.*, (2016). Dosis ekstrak daun singkong yang diberikan kepada puyuh ditentukan dengan melakukan penghitungan dosis sesuai dengan penelitian yang dilakukan Jumadin (2016), sehingga diperoleh dosis pemberian sebagai berikut:

Tabel 1 Dosis pemberian ekstrak daun singkong kepada burung puyuh

| Perlakuan | Dosis ekstrak daun singkong | Jumlah burung puyuh | Kelompok |
|-----------|-----------------------------|---------------------|----------|
| Dosis 0 | 0 mg/168 g BB | 4 ekor | K0 |
| Dosis 1 | 5.292 mg/168 g BB | 4 ekor | K1 |
| Dosis 2 | 10.584 mg/168 g BB | 4 ekor | K2 |
| Dosis 3 | 21.168 mg/168 g BB | 4 ekor | K3 |

Penghitungan Jumlah dan diferensial Leukosit

Perhitungan jumlah leukosit dilakukan dengan cara manual menggunakan metode kamar hitung Neubauer dibawah mikroskop. Darah puyuh dihisap menggunakan mikropipet pengencer kemudian dicampurkan dengan larutan Rees & Ecker pada tabung reaksi. Tabung reaksi kemudian dikocok hingga sampel darah dan larutan tersebut menjadi homogen. Larutan sampel kemudian diteteskan pada kamar hitung Neubauer. Sel-sel leukosit dihitung dibawah mikroskop dengan perbesaran obyektif 40 kali. Hasil perhitungan 1 leukosit yang didapat kemudian dikali dengan 50 untuk mendapatkan jumlah leukosit/mm³.

Pengamatan diferensiasi leukosit dilakukan dengan menggunakan preparat ulas darah. Sampel darah burung puyuh diulas pada gelas objek, difiksasi dengan metanol dan kemudian

dilakukan pewarnaan Giemsa. Preparat ulas darah tersebut diberi minyak emersi untuk kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran obyektif 100 kali. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah masing-masing heterofil, eosinofil, basofil, limfosit, dan monosit dalam 100 leukosit yang ditemukan.

Penghitungan Kadar Total Protein Plasma

Sampel darah dianalisis di laboratorium terhadap konsentrasi protein total dan albumin dengan prinsip fotometer pada panjang gelombang 520 – 580 nm menggunakan kit komersial. Kit komersial yang digunakan adalah Total Protein Liquicolor, Photometric Colorimetric Test, Biuret method (Human®).

Analisa Kadar Malondialdehid (MDA)

Tabung sampel berisi 0.5 ml hemolisisat darah ditambah dengan 2 ml campuran HCL 0.25 N dingin yang mengandung 15 % TCA (Trichloroacetic Acid), 0.38 % TBA (Thiobarbituric Acid), dan 0.5 % BHT (Butil Hidroksi Toluena). Campuran larutan dipanaskan 80°C selama satu jam. Setelah dingin, campuran larutan disentrifugasi 3500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh diambil dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 532 nm. Larutan standar yang digunakan adalah TEP (1,1,3,3 –tetraeoksipropana) (Suarsana *et al.*, 2011).

Pengamatan terhadap Kualitas Telur Puyuh

Tinggi kuning telur dan putih telur diukur menggunakan jangka sorong digital dengan cara menusukkan bagian ujung jangka sorong, kemudian membaca hasilnya yang tertera pada layar kecil digital. Tebal kerabang diukur menggunakan jangka sorong digital dengan cara memisahkan kerabang dengan selaput dalam kerabang. Tebal kerabang diukur pada tiga titik yaitu bagian lancip, tengah, dan tumpul, kemudian dibuat rata-ratanya. Bobot telur puyuh ditimbang menggunakan timbangan digital, kemudian telur dipecahkan dan ditimbang kerabangnya. Bagian kuning telur diambil dan ditimbang pula dengan timbangan yang sama. Bobot putih telur diperoleh dari bobot telur yang dikurangi dengan bobot kerabang dan bobot kuning telur.

Pengamatan terhadap Respon Immunologis dengan Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI)

Respon imunologis akibat vaksinasi ND dalam kondisi cekaman panas dan pemberian ekstrak daun singkong diamati menggunakan Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI) dilakukan sesuai prosedur pada OIE (2012).

Prosedur Analisis Data

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan software SPSS 16.0 menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk menentukan penyebaran distribusi normal pada data. Data yang normal selanjutnya dianalisa menggunakan metode One-Way Analyze of Variant (ANOVA) untuk membandingkan rata-rata dari dua kelompok atau lebih. Apabila hasil uji menunjukkan signifikan ($P < 0.05$) maka terhadap data tersebut dilanjutkan uji Duncan dengan selang kepercayaan 95 %.

Hasil dan Pembahasan

Jumlah dan Diferensial Leukosit

Pelepasan hormon glukokortikoid akibat adanya cekaman panas memiliki keterkaitan yang kuat dengan pembentukan sel leukosit terutama heterofil dan limfosit, sehingga pengukurannya dapat dijadikan indikator cekaman panas pada hewan.

Tabel 2 menampilkan hasil penghitungan jumlah leukosit yang semakin menurun dengan pemberian ekstrak daun singkong dengan dosis bertingkat namun menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($p > 0.05$) antar perlakuan. Hal ini menunjukkan tidak terlihat adanya

pengaruh pemberian ekstrak daun singkong terhadap jumlah leukosit. Hal ini belum dapat membuktikan pernyataan Chaitali dan Preeti (2014) bahwa saponin yang terkandung dalam ekstrak daun singkong merupakan salah satu komponen organik yang memiliki aktivitas antibakteri dan antibiotik, sehingga dapat membantu fungsi kerja dari leukosit.

Jumlah heterofil pada Tabel 2 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($p > 0.05$). Total heterofil tertinggi berada pada K0, sedangkan pada kelompok perlakuan lainnya mengalami penurunan. Hasil pada kelompok K0 sejalan dengan pernyataan Blecha (2000) yang menyatakan bahwa cekaman panas dapat menyebabkan peningkatan jumlah heterofil akibat adanya induksi glukokortikoid pada jalur pembentukannya dan pelepasan heterofil cadangan pada sumsum tulang. Penurunan nilai heterofil pada K1, K2, dan K3 menandakan ekstrak daun singkong dapat membantu menurunkan kadar heterofil walaupun tidak signifikan.

Hasil pengukuran limfosit yang ditampilkan pada Tabel 2 menunjukkan adanya penurunan nilai absolut limfosit pada K2 dan K3 jika dibandingkan dengan K0, namun peningkatan justru terjadi pada K1. Peningkatan limfosit dapat disebabkan oleh terjadinya penurunan heterofil, leukimia limfositik, inflamasi kronis (infeksi bakteri, virus, fungi, dan protozoa), pengeluaran epinefrin, defisiensi kortikosteroid (*hypoadrenokorticism*), dan neoplasia (Dharmawan 2002). Aengwanich *et al.* (2003) menyatakan cekaman panas kronis akan menyebabkan penurunan jumlah limfosit.

Tabel 2 Jumlah dan diferensial leukosit burung puyuh dewasa setelah pemaparan suhu 35 °C dan pemberian ekstrak daun singkong

| Parameter | Kelompok perlakuan | | | |
|---|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | K0 | K1 | K2 | K3 |
| Jumlah leukosit ($\times 10^3/\text{mm}^3$) | 20.20 \pm 8.50 ^a | 20.75 \pm 3.49 ^a | 16.80 \pm 8.04 ^a | 13.40 \pm 3.83 ^a |
| Heterofil ($\times 10^3/\text{mm}^3$) | 7.78 \pm 4.79 ^a | 7.04 \pm 1.62 ^a | 6.77 \pm 3.34 ^a | 5.09 \pm 1.07 ^a |
| Eosinofil ($\times 10^3/\text{mm}^3$) | 1.42 \pm 0.68 ^a | 1.41 \pm 0.43 ^a | 1.05 \pm 0.72 ^a | 0.89 \pm 0.25 ^a |
| Basofil ($\times 10^3/\text{mm}^3$) | 0.43 \pm 0.23 ^a | 0.63 \pm 0.47 ^a | 0.37 \pm 0.29 ^a | 0.37 \pm 0.17 ^a |
| Limfosit ($\times 10^3/\text{mm}^3$) | 9.58 \pm 3.43 ^{ab} | 10.97 \pm 1.62 ^b | 7.96 \pm 3.41 ^{ab} | 6.16 \pm 2.46 ^a |
| Monosit ($\times 10^3/\text{mm}^3$) | 0.99 \pm 0.29 ^a | 0.71 \pm 0.43 ^a | 0.66 \pm 0.65 ^a | 0.88 \pm 0.36 ^a |

Keterangan: Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata ($p < 0.05$). K0=kontrol. K1= Dosis ekstrak daun singkong 5.292 mg/168g BB. K2= Dosis ekstrak daun singkong 10.584 mg/168g BB. K3= Dosis ekstrak daun singkong 21.168 mg/168g BB.

Peningkatan jumlah limfosit hanya terlihat pada K1. Hal ini menandakan ekstrak daun singkong yang diberikan belum terbukti mampu meningkatkan jumlah limfosit secara signifikan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun singkong tidak memberikan pengaruh nyata ($P>0.05$) terhadap jumlah monosit (Tabel 2). Hasil perhitungan nilai absolut basofil dan eosinofil pada seluruh kelompok perlakuan juga tidak menunjukkan perbedaan nyata (Tabel 2). Hal ini dikarenakan basofil dan eosinofil hanya ditemukan dalam jumlah sedikit pada sirkulasi darah.

Rasio Heterofil per Limfosit (H/L)

Rasio H/L merupakan indikator stres yang paling mudah diketahui secara dini. Semakin tinggi angka rasio maka semakin tinggi pula tingkat cekaman sebagai bentuk stres pada unggas (Kusnadi, 2009).

Hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 3 menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($p>0.05$) antar kelompok perlakuan. Cekaman panas kronis akan menyebabkan penurunan jumlah limfosit dan peningkatan jumlah heterofil sehingga rasio antara heterofil dan limfosit meningkat. Kelenjar adrenal akan memproduksi hormon glukokortikoid pada kondisi cekaman panas dan meningkatkan rasio H/L (Gudev *et al.* 2011). Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan rasio H/L pada kelompok perlakuan K1, K2, dan K3 dibandingkan dengan kelompok K0. Hal ini menunjukkan ekstrak daun singkong memberikan pengaruh terhadap penurunan rasio H/L, namun tidak berbeda nyata.

Titer Antibodi Pasca Vaksinasi

Cekaman panas tidak hanya berpengaruh pada jumlah dan diferensial leukosit, melainkan juga mempengaruhi pembentukan antibodi. Penelitian ini melihat pengaruh tersebut melalui

perlakuan vaksinasi dengan vaksin *New Castle Disease* (ND) inaktif.

Tabel 4 Titer antibodi burung puyuh terhadap virus ND pasca vaksinasi

| Kelompok | Titer antibodi per individu | | | |
|----------|-----------------------------|----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| K0 | <2 | <2 | <2 | <2 |
| K1 | <2 | <2 | <2 | <2 |
| K2 | <2 | <2 | <2 | <2 |
| K3 | <2 | <2 | <2 | <2 |

Keterangan: K0=kontrol. K1= Dosis ekstrak daun singkong 5.292 mg/168g BB. K2= Dosis ekstrak daun singkong 10.584 mg/168g BB. K3= Dosis ekstrak daun singkong 21.168 mg/168g BB.

Hasil uji hemaglutinasi inhibisi pada Tabel 4 menunjukkan keseluruhan sampel serum burung puyuh memiliki titer antibodi yang rendah yaitu kurang dari 2. Hormon glukokortikoid yang dihasilkan saat stres panas dapat menyebabkan gangguan pembentukan sel-sel imun dan gangguan pembentukan berbagai sitokin yang diperlukan untuk respons imun (Mashaly *et al.*, 2004). Cekaman panas juga dapat mengganggu pembentukan *T-helper 2 cytokines* (Wang *et al.*, 2002) yang berperan penting untuk pembentukan antibodi. Hal ini menyebabkan hewan yang mengalami cekaman panas akan memperoleh titer antibodi yang rendah.

Hasil penelitian dengan uji HI menunjukkan keseluruhan sampel baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan memiliki titer antibodi kurang dari level antibodi protektif yang ditetapkan OIE (2012) yaitu sebesar 2^4 . Pemberian ekstrak daun singkong tidak menyebabkan perbaikan sistem pertahanan tubuh spesifik dengan melakukan percepatan pembentukan antibodi terhadap ND sehingga saat pengambilan darah pada hari ke 10 antidi belum terbentuk. Hal ini mungkin juga

Tabel 3. Rasio heterofil per limfosit burung puyuh dewasa setelah pemaparan suhu 35 °C dan pemberian ekstrak daun singkong

| Parameter | Kelompok Perlakuan | | | |
|-----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | K0 | K1 | K2 | K3 |
| H/L | 0.94 ± 0.21 ^a | 0.64 ± 0.08 ^a | 0.82 ± 0.14 ^a | 0.89 ± 0.25 ^a |

Keterangan: Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata ($p<0.05$). K0=kontrol. K1= Dosis ekstrak daun singkong 5.292 mg/168g BB. K2= Dosis ekstrak daun singkong 10.584 mg/168g BB. K3= Dosis ekstrak daun singkong 21.168 mg/168g BB.

dikarenakan dalam penelitian ini menggunakan vaksin inaktif. Tizard (2000) menyatakan vaksin inaktif memiliki kekebalan yang lemah karena virusnya tidak mampu bereplikasi dalam tubuh. Vaksin aktif membutuhkan waktu 10 – 14 hari untuk pembentukan antibodi, sedangkan vaksin inaktif membutuhkan waktu yang lebih lama (Siegrist, 2008).

Kadar Malondialdehida (MDA)

Peroksidasi lipida telah umum digunakan sebagai indikator kerusakan yang diperantarai ROS pada membran sel. Malondialdehid (MDA) adalah salah satu produk akhir terbaik yang dipelajari dari peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda dalam sampel klinis dan sering digunakan untuk memperkirakan kondisi stres oksidatif (Hendromartono, 2000). Penentuan kadar MDA serum dapat dilakukan dengan beberapa cara salah satunya dengan uji *thiobarbituric acid-reactive substance* (TBARS) karena MDA termasuk dalam kategori TBARS. Metode ini didasarkan pada reaksi antara kompleks MDA dan *thiobarbituric acid assay* (TBA) dalam suasana asam untuk membentuk kompleks MDA-TBA berwarna merah muda (Daneshyar, 2012). Kompleks MDA-TBA yang terbentuk kemudian diukur intensitasnya menggunakan spektrofotometer pada absorbansi 520-535 nm.

Tabel 5 Kadar malondialdehid burung puyuh dewasa setelah pemaparan suhu 35 °C dan pemberian ekstrak daun singkong

| Parameter | Kelompok Perlakuan | | | |
|--------------|--------------------|--------|-------|-------|
| | K0 | K1 | K2 | K3 |
| MDA (µmol/L) | 15.632 | 11.628 | 3.175 | 3.337 |

Keterangan: K0=kontrol. K1= Dosis ekstrak daun singkong 5.292 mg/168g BB. K2= Dosis ekstrak daun singkong 10.584 mg/168g BB. K3= Dosis ekstrak daun singkong 21.168 mg/168g BB.

Hasil pengukuran MDA pada seluruh kelompok perlakuan mengalami penurunan

dibandingkan dengan kadar MDA kelompok kontrol. Kelompok kontrol memiliki kadar MDA tertinggi yaitu 15.632 µmol/L. Cekaman panas menyebabkan adanya peningkatan jumlah radikal bebas dalam tubuh hingga terjadinya stress oksidatif. Radikal bebas akan menginisiasi peroksidasi lipid. Tingkat peroksidasi lipid dapat diukur dengan mengukur produk akhirnya, yaitu malondialdehida (MDA). Semakin tinggi kadar MDA plasma, maka semakin tinggi pula stress oksidatif yang terjadi dalam sel-sel tubuh (Valko, 2006). Hal ini sesuai dengan hasil pengukuran kadar MDA pada kelompok kontrol yang memperoleh kadar MDA tertinggi.

Dewi *et al.*, (2014) menyatakan flavonoid memiliki sifat antioksidan yang mampu mengurangi ketidakstabilan membran sel, yang diketahui dapat mengurangi difusi radikal bebas serta menurunkan kadar MDA. Hal ini sejalan dengan hasil pengujian fitokimia ekstrak daun singkong yang positif kuat mengandung flavonoid (Jumadin *et al.*, 2017). Hasil penelitian kelompok perlakuan terbukti mengalami penurunan kadar MDA cukup signifikan dibandingkan dengan kontrol, hal ini menandakan ekstrak daun singkong dapat membantu menurunkan kadar MDA.

Total Protein Burung Puyuh

Total protein dalam plasma juga menjadi salah satu parameter yang dapat digunakan untuk mengetahui kondisi fisiologis hewan.

Albumin yang merupakan protein yang kandungannya paling banyak dalam plasma darah memiliki peran sebagai pengikat berbagai ligan dan transportasi, serta bertanggung jawab pada regulasi tekanan osmotik (Vincent, 2009). Kondisi cekaman panas diatasi dengan termoregulasi, sinyal akan dikirimkan ke hipotalamus dan merangsang syaraf simpatis untuk menghasilkan hormon epinephrin. Hormon ini akan meningkatkan aliran darah

Tabel 6 Total protein burung puyuh dewasa setelah pemaparan suhu 35 °C dan pemberian ekstrak daun singkong

| Parameter | Kelompok Perlakuan | | | |
|----------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | K0 | K1 | K2 | K3 |
| Total Protein (g/dL) | 5.95 ± 0.28 ^{ab} | 5.97 ± 0.04 ^{ab} | 5.60 ± 0.09 ^a | 6.08 ± 0.04 ^b |

Keterangan: Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata (p<0.05). K0=kontrol. K1= Dosis ekstrak daun singkong 5.292 mg/168g BB. K2= Dosis ekstrak daun singkong 10.584 mg/168g BB. K3= Dosis ekstrak daun singkong 21.168 mg/168g BB.

sebagai upaya membuang panas melalui *panting*, urinasi, dan pengeluaran uap air. *Panting* menyebabkan pengeluaran CO₂ dalam jumlah banyak, sehingga darah menjadi basa dan protein plasma meningkat untuk menjaga pH darah. Urinasi dan pengeluaran uap air yang banyak mengandung mineral, sehingga mempengaruhi retensi mineral di glomerulus dan tekanan osmotik terganggu. Tekanan osmotik akan dijaga agar tetap seimbang dengan peningkatan albumin dan globulin (Mardani, 2015; Rahadian *et al.*, 2015). Albumin juga dapat meningkat karena albumin merupakan protein pembawa hormon glukokortikoid yang akan meningkat saat stres (Aengwanich, 2007).

Protein lainnya yang terdapat dalam plasma adalah globulin. Cekaman panas yang akan mengganggu immunitas, sehingga perlu diimbangi dengan peningkatan globulin sebagai antibodi (gamma globulin). Hormon glukokortikoid juga akan meningkatkan mobilisasi hormon estrogen ke nukleus yang akan meningkatkan sintesis protein spesifik dalam sel. Estrogen akan masuk ke dalam nukleus dan berikatan dengan protein faktor transkripsi, maka kompleks ini dapat memicu sintesis protein spesifik seperti globulin (Yahav *et al.*, 2004). Hasil penelitian terhadap total protein (Tabel 6) menunjukkan perbedaan antara kelompok tidak signifikan. Tingginya total protein baik albumin ataupun globulin menunjukkan seluruh kelompok perlakuan mengalami stres panas dan ekstrak daun singkong belum terbukti mampu menurunkan kadar total protein plasma.

Kualitas Telur Burung Puyuh

Kualitas telur adalah parameter yang dapat menjadi ukuran cekaman panas pada burung puyuh petelur dewasa.

Hasil pengukuran bobot telur dapat dilihat pada Tabel 7. Kelompok perlakuan yaitu K1, K2, dan K3 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok K0. K2 memiliki bobot telur tertinggi sebesar 11.22 g. Islam *et al.* (2001) menyebutkan bahwa berat telur yang dihasilkan pada suhu lingkungan di atas 27 °C umumnya memiliki berat yang lebih rendah dibandingkan suhu lingkungan di bawah 20 °C. Penurunan bobot telur juga menjadi dampak dari penurunan konsumsi ransum akibat kondisi cekaman panas.

Kesuluruhan pengukuran ukuran telur, baik panjang telur maupun berat telur tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata. North dan Bell (1992) menyatakan peningkatan temperatur lingkungan dapat menurunkan ukuran telur. Hal ini terlihat pada K0 yang memiliki ukuran telur sedikit lebih rendah dari kelompok perlakuan.

Pengukuran terhadap berat kuning telur tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, sedangkan pada tinggi kuning telur kelompok K1, K2, dan K3 mengalami peningkatan dibandingkan dengan K0. K2 dan K3 menunjukkan hasil tinggi kuning telur yang berbeda nyata dengan kelompok kontrol. Sahin *et al.*, (2002) mengatakan cekaman panas akan mengganggu pembentukan vitellogenin

Tabel 7 Kualitas telur burung puyuh dewasa pemaparan setelah suhu 35 °C dan pemberian ekstrak daun singkong

| Parameter | Kelompok Perlakuan | | | |
|--------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | K0 | K1 | K2 | K3 |
| Bobot Telur (g) | 10.59 ± 0.66 ^{ab} | 9.99 ± 0.71 ^a | 11.22 ± 0.51 ^b | 10.58 ± 0.71 ^{ab} |
| Panjang Telur (mm) | 32.11 ± 0.63 ^a | 31.82 ± 0.84 ^a | 32.43 ± 0.52 ^a | 32.12 ± 0.57 ^a |
| Lebar Telur (mm) | 24.66 ± 0.54 ^{ab} | 24.11 ± 0.67 ^a | 25.11 ± 0.49 ^b | 24.71 ± 0.37 ^{ab} |
| Berat Kuning Telur (g) | 3.24 ± 0.16 ^a | 3.16 ± 0.38 ^a | 3.45 ± 0.19 ^a | 3.24 ± 0.24 ^a |
| Tinggi Kuning telur (mm) | 10.64 ± 1.21 ^a | 11.22 ± 0.74 ^{ab} | 11.81 ± 1.21 ^b | 11.87 ± 0.70 ^b |
| Berat Putih Telur (g) | 1.36 ± 0.92 ^a | 1.36 ± 0.17 ^a | 1.41 ± 0.96 ^a | 1.36 ± 0.10 ^a |
| Tinggi Putih Telur (mm) | 4.66 ± 0.69 ^a | 5.07 ± 0.43 ^{ab} | 5.61 ± 0.39 ^{bc} | 5.86 ± 0.57 ^c |
| Berat Kerabang (g) | 1.35 ± 0.92 ^a | 1.33 ± 0.19 ^a | 1.41 ± 0.10 ^a | 1.35 ± 0.11 ^a |
| Tebal Kerabang (mm) | 0.17 ± 0.02 ^a | 0.17 ± 0.01 ^a | 0.18 ± 0.01 ^a | 0.18 ± 0.02 ^a |

Keterangan: Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata ($p < 0.05$). K0=kontrol. K1= Dosis ekstrak daun singkong 5.292 mg/168g BB. K2= Dosis ekstrak daun singkong 10.584 mg/168g BB. K3= Dosis ekstrak daun singkong 21.168 mg/168g BB.

dalam hati yang merupakan protein prekursor pembentukan kuning telur. Hal ini sejalan dengan rendahnya tinggi kuning telur pada K0 yang diberi cekaman panas. Kandungan steroid dalam ekstrak daun singkong mampu meningkatkan fungsi aktivitas anabolik sel hati dengan meningkatkan sintesis vitolegenin, sehingga mempengaruhi tinggi kuning telur (Jumadin 2016). Parameter tinggi putih telur juga menunjukkan adanya peningkatan pada K1, K2, dan K3 dibandingkan dengan K0, peningkatan yang signifikan terlihat pada K3. Berat putih telur tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan.

Hasil pengukuran tebal kerabang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun singkong tidak menyebabkan perbedaan yang nyata ($p > 0.05$), namun secara umum kelompok perlakuan memperoleh ketebalan kerabang yang lebih besar dibandingkan dengan K0. Sudaryani (2006) menyatakan tebal cangkang telur berbanding terbalik dengan suhu lingkungan. Hal ini sejalan dengan hasil K0 dengan ketebalan kerabang yang lebih tipis. Aktivitas *panting* menyebabkan kadar CO_2 darah rendah dan kondisi pH darah menjadi alkalis. Kondisi alkalis ini menyebabkan kemampuan mengikat dan membawa kalsium yang diperlukan untuk pembentukan kerabang telur menjadi berkurang, sehingga kerabang telur menjadi lebih tipis (Yuwanta, 2010). Secara umum ekstrak daun singkong berhasil meningkatkan kualitas telur walaupun tidak signifikan, terlihat dari berat dan tinggi albumin, berat dan tinggi kuning telur, serta berat dan tebal kerabang.

Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun singkong dapat menurunkan kadar MDA dan meningkatkan kualitas telur pada puyuh yang mengalami cekaman panas. Ekstrak daun singkong menurunkan parameter jumlah leukosit, diferensial leukosit, rasio heterofil per limfosit walaupun tidak signifikan. Terjadi peningkatan jumlah total protein pada dosis tertinggi. Vaksinasi dengan vaksin ND inaktif dan diberikan sebanyak satu kali menunjukkan hasil titer antibodi yang rendah, baik pada kelompok yang hanya diberi cekaman panas

maupun kelompok yang diberi cekaman panas dan ekstrak daun singkong.

Daftar Pustaka

- Aengwanich W, Sridama P, Phasuk Y, Vongpralab T, Pakdee P, Katawatin S, Simarak S. 2003. Effects of ascorbic acid on cell mediated, humoral immune response and pathophysiology of white blood cell in broilers under heat stress. *Songklanakarinn J Sci Technol*. 25: 297-305.
- Aengwanich (W. 2007). Effects of High Environmental Temperature on Blood Indices of Thai Indigenous Chickens, Thai Indigenous Chickens Crossbred and Broilers. *International Poult. Sci*. 6: 427-430.
- Blecha F. 2000. Immune system respon to stress. Di dalam: GP Moberg dan JA Mench, editor. *The Biology of Animals Stress Basic Principles and Implications for Animals Welfare*; Wallingford, Inggris. Wallingford (GB): CABI.
- Cesar NT, Ginette DD, Monique T. 2011. Antioxidant and Antiradical Activities of *Manihot esculenta* Crantz (Euphorbiaceae) Leaves and Other Selected Tropical Green Vegetables Investigated on Lipoperoxidation and PMA Activated Monocytes. *Nutrients*. 3(9): 818-838.
- Chaitali N, Preeti SM. 2014. Preliminary phytochemical screening of leaf extract of mulberry (*Sturnus vulgaris*) from Chahattisgarh. *IJABPT*. 5(3):131-136.
- Daneshyar M. 2012. Effect of dietary turmeric on antioxidant properties of thigh meat in broiler chickens after slaughter. *Anim Sci J*. 83(8):599-604.
- Dewi NW, Puspawati NM, Swantara IM, Asih IA, Rita WS. 2014. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid ekstrak etanol biji terong belanda (*Solanum betaceum*, syn) dalam menghambat reaksi peroksidasi lemak pada plasma darah tikus wistar. *Cakra Kimia*. 2(1):7-16.

- Dharmawan NS. 2002. Pengantar Patologi Klinik Veteriner (Hematologi Klinik). Cetakan II. Denpasar (ID): Pelawa Sari.
- Gudev D, Ralcheva PS, Ianchev I, Moneva P. 2011. Effect of betaine and air ammoniac concentration on broiler performance, plasma corticosterone level, lymphoid organ weights, and some hematological indices. *Biotech in Animal Husb.* 27(3): 687-700
- Handoko TH. 2010. Manajemen Personalialia dan Sumber Daya Manusia. Yogyakarta (ID): BPFE.
- Hendromartono S. 2000. Peran Radikal Bebas terhadap Komplikasi Vaskuler. *Majalah Penyakit Dalam Udayana.* 1:89-92
- Islam MA, Bulbul SM, Seeland G, Islam ABBM. 2001. Egg quality of different chicken genotypes in summer-winter. *Pakistan J Bio Sci.* 4(11):1411-1414.
- Jumadin L, Satyaningtjas AS, Santoso K. 2017. Ekstrak Daun Singkong Baik Sebagai Antioksidan pada Burung Puyuh Dewasa yang Mendapat Paparan Panas Singkat. *J Vet* 18(1), 135-143
- Kusnadi E. 2009. Perubahan malonaldehida hati, bobot relatif bursa fabricius dan rasio heterofil/limfosit (H/L) ayam broiler yang diberi cekaman panas. *Media Peternakan.* 32(2): 81-87.
- Mardani W. 2005. Profil protein total dan trigliserida darah ayam petelur fase layer pada temperature humidity index yang berbeda. *J Univ Padj.* 4(1): 2-4.
- Mashaly MM, Hendricks GL, Kalama MA, Gehad AE, Abbas AO, Patterson PH. 2004. Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. *Poult Sci.* 83:889-894.
- North MO, Bell DD. 1992. Commercial chicken production manual. 4th ed. New York (US): Van Nostrand Reinhold.
- [OIE] Office International des Epizooties. 2012. Manual of Diagnostic Test and Vaccine for Terrestrial Animal. Paris (FR): World Organization for Animal Health.
- Rahadian A, Mushawwir A, Kamil KA. 2015. Profil albumin dan globulin darah ayam petelur fase layer pada temperatur humidity index yang berbeda. *J Univ Padj.* 4(1).
- Sahin K, Sahin N, Kucuk O, Gursu MP. 2002. Optimal dietary concentration of vitamin E for alleviating the effect of heat stress on performance, thyroid status, ACTH, and some serum metabolite and mineral concentration in broilers. *Vet Med.* 447: 110-116.
- Siegrist CA. 2008. Vaccine immunology. Di dalam: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, editor. Vaccines. Elsevier Inc. hlm 17-36.
- Suarsana IN, Utama IH, Agung IG, Suartini A. 2011. Pengaruh hiperglikemia dan vitamin E pada kadar Malonaldehida dan enzim antioksidan intrasel jaringan pankreas tikus. *MKB.* 43(2): 72-6.
- Sudaryani T. 2006. Kualitas Telur. Jakarta (ID): Penebar Swadaya.
- St-Pierre NR, Cobanov B, Schnitkey G. 2003. Economic losses from heat stress by US livestock industries. *J Dairy Sci.* 86: E52-E77.
- Tamzil MH, Noor RR, Hardjosworo PS, Manalu W, Sumantri C. 2014. Hematological response of chickens with different heat shock protein 70 genotypes to acute heat stress. *Int J Poult Sci.* 13:14- 20.
- Tizard. 2000. Pengantar Imunologi Veteriner. Edisi II. Partodiredjo M, penerjemah. Surabaya(ID) : Airlangga University Press. Terjemahan dari: Introduction to Veterinary Immunology.
- Valko M. 2006. Free Radical, metal and antioxidant in oxidative stress induced cancer. *J Chem. Biol.* 160: 1-40.
- Vincent JL. 2009. Relevance of albumin in modern critical care medicine. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 23:183-191.

- Wang M, Tan Z, Zhang R, Kottenko SV, Liang P. 2002. Interleukin 24 (MDA-7/MOB-5) signals through two heterodimeric receptors, IL-22R1/IL-20R2 and IL-20R1/IL-20R2. *J Biol Chem.* 277:7341–7347.
- Yahav SA, Straschnow D, Luger D, Shinder, Tanny, Cohen S. 2004. Ventilation, Sensible Heat Loss, Broiler Energy, and Water Balance Under Harsh Environmental Conditions. *J Poult Sci.* 83: 253–258.
- Yuwanta T. 2010. Telur dan Kualitas Telur. Yogyakarta (ID): UGM Press.